Istituto di Anatomia Patologica di Torino
Diretto dal Prof. Senat. PIO FOA'

RICERCHE SULL'IMMUNITA' VERSO GLI INNESTI DI TESSUTI EMBRIONARII

(*con una tavola*)

per il **Dott. SALVATORE SCAGLIONE**

(Estratto dagli **Annali di Ostetricia e Ginecologia)**

MILANO
F. L. COGLIATI TIPOGRAFO-EDITORE
Corso Porta Romana, 17

1915

Istituto di Anatomia Patologica di Torino
Diretto dal Prof. Senat. PIO FOA'

RICERCHE SULL'IMMUNITA' VERSO GLI INNESTI DI TESSUTI EMBRIONARII

(*con una tavola*)

per il Dott. SALVATORE SCAGLIONE

Le ricerche tendenti ad immunizzare gli animali da esperimento verso gl'innesti di tessuti embrionarî sono di data piuttosto recente.

Fichera nel 1908 osservò che, sottoponendo dei ratti bianchi ad innesti ripetuti di tessuti embrionarii, diventavano a poco a poco refrattarii verso gl'innesti successivi; e in un'altra serie di esperienze eseguite presso a poco nella stessa epoca constatò che si poteva ottenere l'involuzione degli innesti embrionarii mediante iniezioni di autolizzati fetali, praticate o durante l'esecuzione del trapianto, o quando il materiale trapiantato si trovava sul periodo della maggiore floridezza.

Peyton Rous nel 1910 sottopose alcuni ratti ad iniezioni intraperitoneali di poltiglia embrionaria diluita in soluzione fisiologica di Nacl, e qualche tempo dopo eseguì negli stessi animali degl'innesti sottocutanei di materiale embrionario: nella maggior parte dei casi non si ebbe attecchimento degl'innesti.

Freund in una serie di ricerche eseguite nel laboratorio di Borst non notò alcuna modificazione nel decorso dell'innesto intraperitoneale nei ratti, che erano stati prima sottoposti ad un innesto sottocutaneo con esito negativo. Krongold nel 1914 immunizzò dei ratti contro gli innesti embrionarii non solo mediante iniezioni ripetute di poltiglia embrionaria, ma anche per mezzo di inoculazioni di poltiglia ricavata da tumori di Flexner.

Dopo le esperienze sopracitate non si può mettere in dubbio l'esistenza d'una speciale forma d'immunità attiva acquisita artificialmente contro gl'innesti di tessuti embrionarii. Questa forma d'immunità è transitoria, non è specifica, potendo ottenersi tanto con tessuti embrionarii quanto con tessuti neoplastici; ed è oscura nella sua essenza.

Secondo Pyton Rous la rapida involuzione dell'innesto embrionario,

negli animali resi immuni, deve spiegarsi con la mancata formazione da parte dell'ospite di uno stroma vascolarizzato permettente la nutrizione dell'innesto (téoria di Brashford e dei collaboratori); secondo Fichera invece lo stesso fenomeno deve spiegarsi con l'azione di speciali enzimi che sono messi in libertà dagl'innesti precedenti nell'ospite o che sono introdotti nell'ospite mediante le iniezioni di autolizzati.

Riguardo poi all'immunità passiva, nel campo degli innesti embrionarii, la letteratura annovera solamente le ricerche di Fichera, il quale, per altro, si preoccupò esclusivamente di determinare la presenza o meno di anticorpi negli animali resi refrattari verso gl'innesti di tessuti embrionarii. Il metodo di tecnica usato da Fichera per risolvere la quistione consisteva nel mettere a contatto il materiale da innestare col siero dell'animale reso immune; ma i risultati di queste ricerche furono tali, da farlo venire alla conclusione, che il siero degli animali immuni non contiene anticorpi specifici verso i tessuti embrionarii; e subordinatamente, che la così detta immunità attiva deve interpretarsi secondo la teoria dianzi accennata.

Esposte sommariamente le varie ricerche inerenti al problema dell'immunità verso gl'innesti di tessuti embrionarii; passerò ad esporre i tentativi da me eseguiti per portare un contributo alla quistione.

Nelle prime ricerche io mi proposi anzitutto di studiare la sorte degl'innesti embrionarii ad un mese di distanza dall'atto operativo.

Siccome Askanazy aveva avuto risultati costantemente positivi e aveva ottenuto teratomi sperimentali di notevoli dimensioni, aggiungendo alla poltiglia embrionaria da innestare dell'acqua eterea al 4 % (secondo il metodo Reinke), volli anch'io applicare questo metodo alle mie prime ricerche; ma quantunque, avessi seguito scrupolosamente i dettagli gentilmente indicatemi dal professore Askanazy, in 18 su 20 casi, i miei innesti fallirono completamente. Io non saprei a qual motivo attribuire questi risultati che certamente contraddicono quelli di Askanazy, ma ho potuto notare che Freund dal metodo precitato ottenne risultati tutt'altro che soddisfacenti. Dopo le prime ricerche poco fortunate nelle esperienze successive adoperai il seguente mètodo di tecnica: tolti mediante taglio laparatomico da femmine di ratti gravide gli embrioni venivano ridotti in fine poltiglia e quindi per mezzo di un cucchiaio erano introdotti in una tasca praticata lungo la linea ascellare nel sottocutaneo del ratto che doveva servire da ospite.

Con questo metodo di tecnica in dieci ratti di sesso maschile in buone condizione di salute e di nutrizione e prelevati dallo stesso allevamento, trapiantai altrettanti embrioni.

Ad eccezione di un ratto nel quale l'innesto regredì rapidamente, in tutti gli altri nove, già dopo la prima settimana, si palpava un piccolo nodulo che andò a poco a poco aumentando di volume, raggiungendo qualche volta in ventesimo giorno la grossezza di una piccola mandorla. Tutti i ratti di questo gruppo d'esperienze furono sacrificati dopo un mese dall'atto operativo e i tumori provenienti dall'innesto con un piccolo tratto di tessuto dell'ospite vennero fissati in Zenker e in Formolo e sottoposti all'esame istologico.

Senza attardarmi nell'esposizione dei singoli reperti istologici, riferirò sommariamente quanto potei constatare.

Ordinariamente i teratomi erano circondati da uno stroma connettivale ricco di cellule rotonde e fusiformi nel quale qualche volta si notavano delle emoraggie ed aree pigmentate. Dei vasi capillari si stendevano su questo stroma e penetravano nel parenchima dei tumori, il quale risultava di tessuti di varia origine variamente disposti. Una parte preponderante tra i varii tessuti spettava al tessuto cartilagineo che era per lo più costituito da isolotti arrotondati circondati spesso da pericondrio; e con elementi cellulari abbastanza evidenti. Con la stessa frequenza si osservavano zone di tessuto osseo ben sviluppato accanto a zone di cartilagine in via d'ossificazione; cisti a tipo epidermico, rivestite da epitelio pavimentoso stratificato, riproducente le varie zone dell'epidermide e contenenti nella loro cavità della sostanza cornea e delle cellule desquamate; cisti a tipo entodermico tapezzate da epitelio cilindrico e contenenti numerose ghiandole tubulari; fibre muscolari lisce e striate; peli; e cavità rivestite da epitelio cilindrico a ciglia vibratili. Con minore costanza invece vi si riscontravano abbozzi di ghiandole salivari, di pancreas e di fegato e non fu mai possibile osservare residui di sistema nervoso centrale. I fenomeni necrotici in questi tumori erano assai limitati; gli elementi cellulari delle varie formazioni erano per lo più ben conservati; ed in molti punti si notavano dei processi attivi di proliferazione, specialmente a carico della cartilagine.

***

Dopo avere studiato la sorte che subiscono i varii tessuti embrionarii trapiantati in ratti bianchi in condizioni normali ad un mese

di distanza dall'atto operativo; volli instituire delle ricerche per vedere se il siero dei ratti, sottoposti ad innesti ripetuti, modifica in qualche modo l'andamento degl'innesti di tessuti embrionarii. Per lo studio di questa quistione fu adoperato un numero assai notevole di ratti bianchi e tutti questi furono sottoposti a quattro innesti d'embrioni, distanziati di una settimana l'uno dall'altro.

Per il primo innesto veniva adoperata $^1/_2$ cm.^{3} di poltiglia embrionaria, per il secondo 1 cm.^{3} della stessa sostanza, per il terzo e per il quarto rispettivamente 2 e 3 cm.^{3} di poltiglia embrionaria. Tre giorni dopo l'ultimo innesto i ratti così trattati venivano uccisi per dissanguamento ed il sangue ricavato da ciascuno di essi era raccolto in recipienti sterili ed era fatto sierare in termostato. Il siero così ottenuto veniva adoperato nelle ulteriori esperienze.

Primo Gruppo d'Esperienze.

In undici ratti di sesso maschile vengono trapiantati sotto cute altrettanti embrioni di ratto ridotti in poltiglia e contemporaneamente in ognuno di essi è iniettato sotto cute 1 cm.^{3} del siero ricavato nel modo sopra esposto. In altri quattro ratti pure di sesso maschile vengono trapiantati quattro embrioni, ma non viene iniettata alcuna sostanza. In due ratti trattati con siero per difetto di tecnica nell'esecuzione dell'innesto questo non attecchisce; invece in tutti gli altri ratti trattati con siero e nei quattro non trattati gl'innesti non solo attecchiscono, ma danno luogo alla formazione di teratomi piuttosto grossi. Tutti i ratti di questo gruppo d'esperienze sono sacrificati dopo un mese dall'esecuzione dell'innesto e i tumori, previa fissazione, vengono esaminati al microscopio.

RATTI TRATTATI CON UN' INIEZIONE DI SIERO.

Tumore del ratto N. 1.

Lo stroma del tumore è costituito da tessuto connettivo a cellule rotonde e fusiformi e contiene alla periferia numerosi vasi. Il tumore propriamente detto risulta di cartilagine in gran parte in via d'ossificazione, di cisti epidermiche contenenti della sostanza cornea nella loro cavità e di cisti dermiche contenenti nella loro parete dei peli.

Tumore del ratto N. 2.

La massima parte del tumore è costituito dallo stroma di natura

connettivale. Nella parte periferica troviamo della cute che probabilmente appartiene all'ospite; nella parte centrale troviamo delle aree di cartilagine, in gran parte necrotizzate e circondate da cellule giganti. Del tessuto connettivo tende ad invadere queste aree di cartilagine e a sostituirsi ad esse.

Tumore del ratto N. 3.

Il tumore è formato di tessuto connettivo riccc di cellule fusiformi e contiene pochi vasi. Il tumore propriamente detto risulta di numerosi isolotti cartilaginei in certi punti necrotizzati e invasi da tessuti connettivo, in altri in via d'ossificazione. Vi si riscontrano pure due cisti epidermiche, degli accumuli di tessuto linfatico, e un'ampia cisti rivestita da epitelio cilindrico. Le cellule di rivestimento di questa cisti appaiono rigonfie e spesso vacuolizzate. Il nucleo presenta quasi in tutte le cellule delle alterazioni di varia intensità che vanno dalla picnosi fino alla cariolisi.

Tumore del ratto N. 4.

Vi si riscontrano reperti eguali a quelli notati nel ratto N. 3.

Tumore del ratto N. 5.

Lo stroma costituito di tessuto connettivo ricco di cellule fusiformi e rotonde manda numerose propaggini nell'interno del tumore il quale è costituito da alcune zone di cartilagine in parte ben conservata in parte necrosata e circondata da cellule giganti.

Tumore del ratto N. 6.

In mezzo ad uno stroma costituito da tessuto connettivo denso, con pochissimi vasi, si notano numerosi fasci muscolari striati, numerose ghiandole tubulari, zone di cartilagine e aree di tessuto osseo.

Tumore del ratto N. 7.

Lo stroma è costituito da tessuto connettivo con molte cellule rotonde e fusiformi cariche d'emosiderina e con molti vasi neoformati. Il parenchima del tumore è costituito da varie zone di cartilagine in via d'ossificazione; da una grossa cisti epidermica e da due cisti entodermiche di cui, una più piccola cirondata da un anello cartilagineo, e un'altra più ampia. In qualche punto di queste due cisti l'apitelio manca del tutto, in altri invece appare rigonfio con protoplasma ripieno di grandi vacuoli e con nucleo ora picnotico e ora mancante.

In mezzo alle cellule vacuolizzate si riscontrano dei leucociti polinucleati.

Tumore del ratto N. 8.

Lo stroma è costituito di un connettivo piuttosto denso. La parte preponderante del tumore risulta di varie zone di cartilagine e di tessuto osseo. Fra queste formazioni si riscontra una cisti epidermica.

Tumore del ratto N. 9.

Lo stroma è notevolmente sviluppato. Nel tumore, oltre a piccoli tratti di cute, si notano le solite aree di cartilagine ben conservata; e del tessuto osseo molto giovane.

RATTI NON TRATTATI CON SIERO.

Tumore del ratto a.

Lo stroma è ben sviluppato; risulta di tessuto connettivo ricco di cellule e contiene numerosi vasi.

Il parenchima del tumore è costituito da tessuto cartilagineo in massima parte in via di ossificazione, da cumuli di peli, e da un tratto abbastanza evidente d'intestino. Gli elementi cellulari di questo tratto di intestino sono ottimamente conservati.

Tumore del ratto b.

Lo stroma è costituito da tessuto connettivo ricco di cellule. I vasi sono poco numerosi. Il tumore propriamente detto contiene varie cisti epidermiche, qualche cisti entodermica rivestita da epitelio cilindrico a ciglia vibratili. Gli elementi cellulari delle cisti entodermiche sono tutti ben conservati. Oltre le formazioni già dette, questo tumore contiene delle aree di cartilagine in via d'ossificazione e dei fascetti muscolari striati.

Tumore del ratto c.

Vi si osservano reperti eguali a quelli notati nel ratto *a*.

Tumore del ratto d.

Lo stroma è costituito di tessuto connettivo a cellule rotonde e fusiformi cariche di pigmento brunastro e contiene numerosi vasi. Il tumore propriamente detto risulta costituito di cartilagine, di tessuto osseo e di abbozzi di ghiandole salivari ben evidenti.

Secondo Gruppo d'Esperienze.

Undici ratti di sesso maschile vengono sottoposti a quattro iniezioni sottocutanee di siero ricavato da altri ratti trattati nel modo dianzi esposto.

La prima iniezione consta di $^1/_2$ cm³ di siero; la seconda iniezione viene praticata 4 giorni dopo la prima e consta di 1 cm³ di siero, la terza iniezione è eseguita in ottava giornata ed è costituita da 1 $^1/_2$ cm³ di siero; la quarta finalmente viene eseguita in dodicesima giornata e risulta di 2 cm³ di siero. In tutti gli undici ratti in quattordicesima giornata vengono trapiantati altrettanti embrioni. Contemporaneamente in cinque ratti di sesso maschile, non pretrattati con siero, sono trapiantati cinque embrioni.

Gl'innesti attecchiscono in tutti quanti i ratti, ma in molti animali pretrattati i tumori raggiungono dimensioni minori, che non in quelli non trattati con siero. Per esaminare le possibili differenze di struttura tra i tumori dei ratti pretrattati e dei non pretrattati, si sacrificano tutti gli animali dopo un mese dall'esecuzione dell'innesto e si fissano i tumori in Zenker e in formolo.

ESAME DEI TUMORI DEI RATTI PRETRATTATI CON QUATTRO INIEZIONI DI SIERO.

Tumore del ratto I.

Lo stroma connettivale che l'avvolge è costituito da fibroblasti e da cellule rotonde cariche spesso di pigmento emosiderinico. I vasi sono piuttosto numerosi.

Il tumore propriamente detto risulta di varii isolotti cartilaginei, circondati di pericondrio, con elementi cellulari ben conservati e spesso in via di proliferazione.

Tumore del ratto II.

Lo stroma è formato di tessuto connettivo contenente numerosi fibroblasti e poliblasti e qualche linfocita. I vasi neoformati che decorrono in questo tessuto sono abbondanti. Nella parte periferica del tumore si riscontrano dei veri noduli di tessuto linfatico, andando invece verso la parte centrale si riscontrano numerose aree di cartilagine in via di ossificazione; e una grossa cisti epidermica rivestita da epitelio pavimentoso stratificato, la quale contiene delle masse granulose, dei leucociti e qualche cellula desquamata.

Tumore del ratto III.

Lo stroma è notevolmente sviluppato ed è costituito di un connettivo ricco di elementi cellulari e di vasi neoformati. Esso manda per ogni direzione numerose propaggini nell'interno del tumore, il quale contiene ormai solo qualche isola di cartilagine ben conservata e alcune aree di cartilagine neorotizzate, circondate da cellule giganti.

Tumore del ratto IV.

Il tumore è completamente costituito di un tessuto connettivo povero di vasi e di cellule.

Tumore del ratto V.

Presenta gli stessi reperti del tumore del ratto I.

Tumore del ratto VI.

Lo stroma è costituito di tessuto connettivo contenente numerosi fibroblasti, numerose cellule rotonde, notevole quantità di leucociti e abbondanti vasi.

Il tumore è costituito da due cisti epidermiche ampie rivestite incompletamente da epitelio pavimentoso stratificato, e contenenti della sostanza cornea, degli ammassi granulosi e numerose cellule desquamate. Oltre queste formazioni si notano varie zone di cartilagine, di cui alcune in via d'ossificazione.

Tumore del ratto VII.

Lo stroma è notevolmente sviluppato ed è formato di un tessuto connettivo povero in alcuni punti di cellule; ricco in altri punti di elementi cellulari e di vasi. Il tumore è costituito da varie isole di tessuto cartilagineo circondate da pericondrio e con elementi ben conservati e da varie isole di tessuto osseo a diverso grado di sviluppo. In qualche punto del tumore si osserva anche una metaplasia cartilaginea del tessuto osseo.

Tumore del ratto VIII.

I reperti sono quasi uguali a quelli notati nel tumore del ratto III.

Tumore del ratto IX.

Lo stroma si compone di tessuto connettivo contenente fibroblasti; cellule rotonde; e numerosi linfociti. I vasi sono numerosi. Il tumore risulta di varie zone di cartilagine ben conservata; di cartilagini in via d'ossificazione; di una cisti epidermica rivestita da epitelio pavimentoso ben evidente.

Tumore del ratto X

Lo stroma connettivale del tumore contiene numerosi linfociti e vasi numerosi. Nel tumore troviamo esclusivamente varie zone di cartilagine, solo in piccola parte necrotizzata, e varie zone di tessuto osseo.

Tumore del ratto XI.

Lo stroma è notevolmente sviluppato, contiene vasi ed elementi cellulari. Il tumore risulta di isolotti cartilaginei e di tessuto osseo molto giovane, contenente del midollo osseo.

TUMORI DEI RATTI NON PRETRATTATI CON SIERO.

Tumore del ratto A.

Lo stroma è poco sviluppato, è costituito di tessuto connettivo contenente fibroblasti, cellule rotonde e qualche leucocita. I vasi sono poco numerosi; vi abbondano i granuli di emosiderina. Il tumore propriamente detto risulta di un tratto notevole d'intestino; gli epitelii di rivestimento della mucosa intestinale e quelli delle ghiandole che si trovano in questo tratto d'intestino non presentano alterazioni degenerative. Oltre questa formazione si riscontrano nel tumore dei fasci di fibre muscolari striate, e alcune zone di cartilagine con elementi cellulari in via di moltiplicazione.

Tumore del ratto B.

Il connettivo che forma lo stroma è costituito da fibroblasti e cellule rotonde e possiede pochi vasi. Il parenchima del tumore è formato da varie cisti entodermiche ad epitelio cilindrico, da una piccola cisti rivestita da epitelio cubico e circondata quasi completamente da un anello cartilagineo; e da alcune isole di cartilagine in gran parte in via d'ossificazione. Anche in questo caso gli epitelii di rivestimento delle cisti sono ben conservati .

Tumore del ratto C.

Lo stroma è ricco di elementi cellulari e di vasi.

Il tumore contiene varie cisti epidermiche rivestite da epitelio pavimentoso stratificato, ripiene d'una sostanza granulosa; una grossa cisti dermica nelle cui pareti si trovano dei peli e delle ghiandole sebacee ; varî isolotti cartilaginei, delle zone di tessuto osseo infiltrate da midollo osseo, e un piccolo tratto d'intestino.

Tumore del ratto D.

Lo stroma è poco sviluppato. Il tumore risulta in gran parte di un

grosso frammento d'intestino al quale sono annesse numerose ghiandole tubulari.

Anche in questo tumore gli epitelii sono ben conservati. Oltre la detta formazione si riscontrano nel tumore dei noduli linfatici; e delle zone di cartilagine in via di proliferazione.

Tumore del ratto E.

Lo stroma è costituito di tessuto connettivo nel quale abbondano i fibroblasti mentre le cellule rotonde e i vasi sono poco numerosi. Il tumore contiene una grossa cisti rivestita da epitelio cilindrico a ciglia vibratili, due cisti epidermiche ad epitelio pavimentoso stratificato, un frammento d'intestino; e del tessuto osseo a vario grado di sviluppo. Anche in questo tumore gli epitelii ordinariamente sono ben conservati.

Terzo Gruppo d'Esperienze.

In otto ratti di sesso maschile sono eseguite 4 iniezioni sottocutanee di siero di ratto, di sesso maschile, in condizioni normali. Con la prima iniezione viene iniettato 1/2 cm^3 di siero, con la seconda eseguita in quarta giornata viene iniettato 1 cm^3 di siero, con la terza eseguita in ottava giornata viene iniettato 1 $^1/_2$ cm^3 di siero e con la quarta eseguita in dodicesima giornata vengono iniettati 2 cm^3 di siero.

Con lo stesso procedimento in quattro ratti di sesso maschile vengono iniettate quantità eguali di siero, ricavato da ratti sottoposti a quattro innesti successivi. In tutti i ratti di questo gruppo d'esperienze in quattordicesima giornata vengono trapiantati altrettanti embrioni; e tutti poi vengono uccisi dopo un mese dall'innesto.

TUMORI DEI RATTI PRETRATTATI CON SIERO NORMALE.

Tumore del ratto F.

Lo stroma è costituito di tessuto connettivo contenente numerosi fibroblasti e cellule rotonde ed è ben vascolarizzato.

Il tumore propriamente detto è formato da una grossa cisti epidermica ad epitelio pavimentoso stratificato e contenente della sostanza amorfa e qualche leucocita; da varie zone di tessuto cartilagineo in via d'ossificazione, da aree di tessuto osseo ben sviluppato; e da un tratto notevole d'intestino in ottimo stato di conservazione.

Tumore del ratto G.

Lo stroma è poco sviluppato. Nel tumore si rinvengono varie isole di cartilagine in via di proliferazione, una cavità cistica rivestita da epitelio cubico e circondata da una zona di cartilagine; un'altra cavità cistica rivestita da epitelio cilindrico; e alcuni ammassi di ghiandole salivari. Ordinariamente gli epitelii di rivestimento delle cisti e quelli delle ghiandole sono ben conservati.

Tumore del ratto H.

Lo stroma è poco sviluppato. Il tumore contiene dei tratti di cute, qualche isola di cartilagine in via d'ossificazione; numerosi ammassi di ghiandole tubulari; e una grande cisti rivestita da epitelio cilindrico a ciglia vibratili, ripiena di muco.

Tumore del ratto I.

Il connettivo costituente lo stroma è ricco di elementi cellulari e di vasi. Il tumore risulta di due grosse cisti epidermiche, rivestite da epitelio pavimentoso, nel quale si riconoscono assai bene i vari strati dell'epidermide; di un nodulo linfatico, di abbozzi di ghiandole salivari; da varie zone di cartilagine e di tessuto osseo. In qualche punto si osserva la metaplasia del tessuto osseo in cartilagineo.

Tumore del ratto L.

Il connettivo costituente lo stroma contiene numerosi fibroblasti e cellule rotonde; del pigmento emosiderinico e numerosi vasi neoformati. Nel tumore si rinvengono varie isole di cartilagine circondate da pericondrio e con elementi cellulari ben conservati; qualche tratto di cute, dei noduli linfatici e una cisti entodermica tapezzata da epitelio cilindrico a ciglia vibratili, ben conservato.

Tumore del ratto M.

Lo stroma è costituito di connettivo ben vascolarizzato.

Il tumore è in massima parte costituito di cartilagine e di tessuto osseo, infiltrato da midolo osseo; ma contiene anche un tratto d'intestino al quale sono aggregate numerose ghiandole tubulari, e una piccola cisti entodermica rivestita da epitelio cubico.

Tumore del ratto N.

Vi si riscontrano reperti eguali a quelli notati nel tumore del ratto F.

Tumore del ratto O.

Lo stroma è costituito di connettivo ricco di elementi cellulari e di vasi. Gran parte del tumore è formato da una grossa cisti epidermica e da una cisti entodermica rivestita da epitelio cilindrico a ciglia vibratili. Tra queste due formazioni si notano degli abozzi di ghiandole salivari, del tessuto osseo e del tessuto cartilagineo.

TUMORI DEI RATTI PRETRATTATI CON SIERO RICAVATO DA RATTI SOTTOPOSTI AD INNESTI RIPETUTI

Tumore del ratto P.

Lo stroma costituito di tessuto connettivo ricco di elementi cellulari e di vasi invia numerose propaggini nell'interno del tumore il quale è ormai costituito soltanto di aree di cartilagine in parte conservata assai bene e in parte in preda a necrosi avanzata. Fra le masse necrotizzate si nota la presenza di cellule giganti.

Tumore del ratto Q.

Lo stroma è notevolmente sviluppato. Tutti gli altri tessuti, che ordinariamente sono stati riscontrati nei teratomi sopra descritti, sono scomparsi e si nota nel tumore solo la presenza di alcune isole di cartilagine e di alcune zone di tessuto osseo in differente stadio di sviluppo.

Tumore del ratto R.

Vi si riscontrano reperti identici a quelli riscontrati nel ratto P.

Tumore del ratto S.

Lo stroma è notevolmente sviluppato. Nel tumore si riscontra qualche cisti epidermica e le solite zone di cartilagine, circondata da pericondrio, e ben conservata.

Dei risultati ottenuti nelle mie ricerche a parer mio offrono un notevole interesse quelli del secondo gruppo d'esperienze. Qui si nota infatti una netta differenza fra i teratomi dei ratti pretrattati con quattro iniezioni di siero ed i teratomi dei rispettivi controlli.

I primi sono costituiti o di sola cartilagine o di cartilagine e di tessuto osseo e solo in alcuni casi contengono qualche cisti epidermica; i secondi invece oltre che la cartilagine, il tessuto osseo e le cisti epidermiche, contengono delle formazioni più complesse come: cisti ento-

dermiche rivestite da epitelio cilindrico, ammassi di ghiandole, frammenti d'intestino, noduli linfatici, fasci muscolari striati, ecc. Tale differenza di struttura tra i teratomi degli uni e quella degli altri non può essere attribuita alla differente ricettività dei ratti adoperati in questo gruppo d'esperienze, rispetto all'attecchimento degl'innesti; ma deve essere attribuita all'azione del siero inoculato nei primi per svariate considerazioni; ed in special modo; perchè tanto i ratti pretrattati con siero quanto i controlli appartenevano alla stessa razza e al medesimo sesso; provenivano dallo stesso allevamento e si trovavano al momento dell'innesto tutti quanti in buone condizioni di salute e di nutrizione.

Si potrebbe obiettare da uno che dovesse osservare superficialmente i reperti del I e del II gruppo d'esperienze che i risultati ottenuti nel II gruppo debbano mettersi in rapporto con la grande quantità di siero iniettato nei ratti compresi in questo gruppo di ricerche e non con le proprietà del siero adoperato; ma il III gruppo d'esperienze dimostra chiaramente che la struttura molto semplice dei teratomi dei ratti del II gruppo (ratto I, II, III, IV, V, VI, VIII IX, X, XI) dipende esclusivamente dal secondo fattore.

Infatti i teratomi dei ratti trattati con 4 iniezioni di siero normale (ratto F, G, H, I, L, M, N e O sono formati di cartilagine di tessuto osseo, di cisti epidermiche, di cisti entodermiche, di ghiandole, ecc.; mentre i teratomi dei ratti pretrattati con eguale quantità di siero, ricavato da altri ratti sottoposti ad innesti ripetuti (ratto P, Q, R e S), sono costituiti esclusivamente di cartilagine, di tessuto osseo e di qualche cisti epidermica.

Dimostrato, in base alle considerazioni esposte, che si deve esclusivamente al trattamento col siero ricavato da ratti sottoposti ad innesti ripetuti la differenza di struttura tra i teratomi dei ratti pretrattati con quel siero e i teratomi dei rispettivi controlli, è naturale che vengano posti i seguenti quesiti.

I. Perchè nei teratomi dei ratti pretrattati con quattro iniezioni di siero, ricavato col metodo di tecnica sopra accennato, si ha quasi constantemente la scomparsa delle formazioni di struttura piuttosto complessa e differenziata mentre permangono la cartilagine ed il tessuto osseo?

II. Quale è il meccanismo d'azione di questo siero?

Per rispondere al I quesito io invocherò i seguenti fatti: in primo luogo che quasi tutti gli autori da Zahn a Ferè, Brisch-Hirschfeld, Askanazy ecc., hanno constatato che, trapiantando tessuti embrionarî in

animali in condizioni normali, il tessuto cartilagineo attecchisce meglio che tutti gli altri e persiste più lungamente; in secondo luogo che Fichera, sottoponedo i tessuti embrionarî da trapiantare all'azione del freddo e Chorol, aggiungendo delle piccole quantità di culture di *mucor racemosus* o di culture di protozoarî, hanno riscontrato negli innesti, estirpati dopo un certo periodo di tempo dal trapianto, la presenza costante di tessuto cartilagineo e osseo e l'assenza nella massima parte dei casi di cisti entodermiche, di tratti di tubo digerente e di tubo respiratorio.

I fatti da me citati dimostrano la grande resistenza del tessuto cartilagineo e osseo e la grande labilità delle formazioni più complesse e più differenziate, contenute negli innesti di tessuti embrionarî, e possono avere qualche valore per spiegare il motivo per cui queste ultime formazioni vengono ordinariamente danneggiate dall'azione del siero; devo però convenire che essi non servono a risolvere completamente la questione.

Riguardo al II quesito io mi fermerò in special modo ad alcuni casi del I gruppo d'esperienze (ratto n. 3-4-7). In questi teratomi si nota la presenza di qualche cisti entodermica, di residui d'intestino e di ghiandole; però mentre gli epitelî delle formazioni identiche riscontrate nelle prove di controllo sono ben conservati, nei detti teratomi gli epitelî appaiono rigonfi, ripieni di grandi vacuoli chiari, con alterazioni notevoli del nucleo, e spesso anche mancanti.

Da questi reperti che sono caratteristici di questi animali trattati con un'iniezione di siero, io mi credo autorizzato a potere affermare che la scomparsa delle formazioni di struttura più complessa sia dovuta ad un'azione *citolitica* del siero ottenuto da ratti sottoposti a innesti ripetuti. Iniziatesi queste alterazioni nella compagine degli innesti, la proliferazione del connettivo ambiente e la neoformazione vasale diventano più attivi; gli elementi neoformati invadono l'innesto e tendono a sostituirsi alle formazioni in via d'involuzione.

In ultima analisi quindi il processo, negli innesti dei ratti trattati col siero, decorre nelle grandi linee secondo quanto aveva notato Fichera nelle sue ricerche intorno agl'innesti in serie, e in quelle intorno all'azione degli autolizzati fetali.

Un punto che mi sembra molto arduo di potere risolvere è quello che riguarda la natura delle sostanze alle quali si deve attribuire l'azione citolitica del siero da me ottenuto.

Recentemente Abderhalden ha potuto constatare che il siero di san-

gue del cane e del coniglio il quale non è dotato di potere litico per il sarcoma del ratto, digerisce in vitro il tessuto sarcomatoso, allorquando nel cane o nel coniglio venga iniettato per via endovenosa l'estratto di sarcoma di ratto; e che il siero dell'animale stimolato e fornito di potere oncolitico in vitro; iniettato ad un ratto in cui si è sviluppato lo stesso sarcoma, cagiona dopo alcune iniezioni la scomparsa del sarcoma.

Questa azione litica del siero, che originariamente non era in grado di attaccare il tessuto neoplastico, secondo Abderhalden, sarebbe in rapporto con la elaborazione e l'immissione in circolo dei cosidetti fermenti protettori.

Lo stesso Abderhalden e Grigorescu hanno potuto poi constatare che i fermenti protettivi non solo si possono trasmettere da animale ad animale, ma che si esaltano e si rafforzano in questa trasmissione.

Dati questi precedenti si potrebbe pensare che l'azione citolitica del siero dei ratti pretrattati con quattro innesti di tessuti embrionarî, sia legata alla presenza di fermenti difensivi, ma non avendo istituito delle ricerche speciali per affermare ciò, mi debbo limitare per ora a quella conclusione che risulta dalle mie esperienze e cioè che: il siero di ratti sottoposti ad innesti ripetuti a dose crescente di poltiglia embrionaria è dotato di potere citolitico rispetto agli elementi più complessi e più differenziali, che ordinariamente si riscontrano nei cosidetti teratomi sperimentali.

Bibliografia.

Abderhalden in Mediz. Klin. n. 5, 1914.

Abderhalden e Grigorescu in Deutsch. Mediz. Woch., 1914.

Chorol: Sur l'influence de certains microorganisme sur la production des tumeurs teratoïdes experimentales — Thèse, Genève, 1912.

Fichera: Sugli innesti di tessuti embrionarî e fetali. Archiv. e Att. Soc. It. di Chir. XXI Adunanza, 1908.

Idem: Tumori — Roma, 1911.

Idem: Immunizzazione attiva o chemoterapia istogena? — Roma, 1914.

Freund: Ueber experimentelle Erzeugung teratoider Tumoren beider weisten Ratte. — Ziegler's Beitr., 1911.

Krongold: Recherches experimentales sur les greffes embyonnaires. — Thèse de Paris, 1914.

Rous: An experimental comparison of transplanted tumor and a transplanted normal tissne capable of growth. — Journal of. exper. Med., 1910.

Spiegazione delle tavole.

Tavola I. — Sezione di un teratoma di ratto trattato con quattro iniezioni di siero prelevato da un altro ratto sottoposto a quattro innesti successivi di tessuti embrionarî.

Nella figura si vedono varie isole di cartilagine che appartengono all'innesto e delle fibre muscolari dell'ospite.

Tavola II. — Sezione di un teratoma di ratto non trattato con siero.

Nella figura si vede un tratto d'intestino, un nodulo linfatico e una zona di cartilagine.

———————

Lit. Tacchinardi e Ferrari-Pavia